

令和 2 年 6 月 30 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07590

研究課題名(和文)植物ホルモンの網羅的分析によるアスパラガスの休眠生理の解明

研究課題名(英文)Elucidation of dormancy physiology of asparagus by comprehensive analysis of plant hormones

研究代表者

児島 清秀 (Kojima, Kiyohide)

新潟大学・自然科学系・教授

研究者番号：70271161

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：アスパラガスではジベレリンの特にジベレリン1(GA1)の方が休眠打破の役割を持っているようである。ABAが休眠誘導の作用をしている根拠は本実験では得られなかったが、GA1を除いてもABA、ジャスモン酸(JA)、ジャスモン酸メチル(MeJA)、トランスゼアチン(Z)の4種類もの植物ホルモンが萌芽において最も高い濃度で存在していた。これは養分の転流や細胞分裂促進、頂芽優勢など、萌芽の急成長のために必要な機能を発現させるためだと考えられる。また、植物の変化が激しい部位で多種多量の植物ホルモンが作用しているとも言える。IAA、ABA、Z、ジベレリン4(GA4)がこれに該当するだろうと推察できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アスパラガスの休眠打破に関わる植物ホルモンを特定し、アスパラガスの萌芽時期を早める技術の開発を目的とした。

休眠芽に高濃度のABAが存在しなかったのは萌芽適正時期が近づき、ABA濃度が下がってきた状態のサンプルを採取したためだと思われる。植物の休眠の維持にはABAが一定以上必要であるが、休眠性が弱くなるにつれて濃度も低下することが知られている。ABAがIAAのように萌芽の伸長に関わっていると考えられ、気孔の開鎖、成長抑制、休眠などABAはマイナスの生理作用を多く持つ。ジャスモン酸類はストレス応答を司る植物ホルモンであるので、萌芽に存在する高濃度のJAは、ストレスを受けていることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：In asparagus, gibberellin, especially gibberellin 1 (GA1), appears to have a dormant role. The basis for the dormancy-inducing action of ABA was not obtained in this experiment, but four types of ABA, jasmonic acid (JA), methyl jasmonate (MeJA), and transzeatin (Z) were excluded even when GA1 was excluded. The phytohormones were present at the highest concentration in sprouting. It is considered that this is to express functions necessary for rapid growth of sprouts, such as nutrient translocation, cell division promotion, and apical dominance. It can also be said that a large amount of various plant hormones act on the site where the plant changes drastically. It could be inferred that IAA, ABA, Z and Gibberellin 4 (GA4) would fall under this category.

研究分野：園芸学

キーワード：アスパラガス 植物ホルモン 休眠打破 ジャスモン酸類 萌芽 アブシジン酸

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

【アスパラガスの植物ホルモンは未解明】 アスパラガスの休眠に関連した内生植物ホルモンは 1980 年の報告のみで、りん芽のみを採取して、当時の信頼性の低い検定技術で、アブシジン酸(睡眠薬の効果)とジベレリン(気付け薬の効果)様物質のみの分析である。そこで、現代のほぼ 100%の信頼性の機器分析による休眠と萌芽性に関係する植物ホルモンの網羅的分析が必須である。

【生物検定の問題点】 わが国は、内生量を機器分析で正確に分析する研究はわずかで、園芸学ではホルモンの外生施与の研究が主である。分析機器の進歩以前に使用されてきた生物検定は、前駆物質や阻害物質に影響されるので信頼性が極めて低い。現在までの園芸作物の内生ホルモンの情報は、生物検定や初期的な分析機器による分析に基づいており、内生ホルモンの情報の現代化が急務である。

【植物ホルモンの網羅的分析の有効性】 園芸作物の生理機構の解明には植物ホルモンの分析は必須であるが、世界的に遺伝子研究に集中化している。植物ホルモンの質量分析検出器を使用した網羅的な一斉分析が可能な施設は諸外国には見当たらず、わが国に 2 つ(理化学研究所と当研究室)存在しているのみである。そこで、本研究は先端的なオンリーワンの基礎技術・基礎研究として世界に誇れる学術的に極めて意義深い内容である。

2. 研究の目的

アスパラガスの内生植物ホルモンと温度との関連を、年間を通し網羅的に分析し、休眠性・萌芽性の制御機構を生理学的観点から解明する。得られた知見を基に、アスパラガスを含めた園芸作物の発育生理の理解に貢献し、効率的な新規の栽培技術の開発に向けた科学的基盤の確立を目標とする。

試験 1. アスパラガスにおいて、萌芽・休眠期の植物体(繁茂した茎葉、若茎、地下茎、りん芽)の内生植物ホルモン濃度を網羅的に明らかにする。対象は、アブシジン酸、インドール酢酸、ジベレリン類、サイトカイニン類、ジャスモン酸類の生理活性型である。

試験 2. 初年度の試験 1 の結果より、休眠の制御に関連する活性型の植物ホルモンについて、1 年間(季節)の植物体の各部位の内生濃度の変化を明らかにする

試験 3. 休眠打破後の萌芽性(芽から食用部分の若茎が徐々に伸長する程度)が異なる 3 品種の休眠打破の前後の植物体の植物ホルモン濃度を明らかにして、萌芽性の生理を解明する。

3. 研究の方法

萌芽・休眠期の植物体の内生植物ホルモンの網羅的分析

休眠現象の解明の基礎として、アスパラガス‘ウエルカム’の植物体の内生植物ホルモンを網羅的に分析する。時期は、萌芽期の最も萌芽が活発な時期と休眠が最も深い時期である。

【植物ホルモンは網羅的分析】 対象は、関与が考えられる植物ホルモンの生理活性型を網羅している; アブシジン酸、インドール酢酸、ジベレリン類は GA₁・GA₄、サイトカイニン類は Z・iP、ジャスモン酸類は JA・MJA。

【HPLC の 2 段階精製法は開発済み】 植物ホルモンは極微量物質のため、相対的にきょう雑物(植物ホルモン以外の物質)が極めて大量になる。これまで報告されてきた植物ホルモンの精製は様々な方法を組み合わせているため、職人芸的な修練を必要とし、数年かかっても全ての方法の習得は困難であった。

そこで申請者の開発した方法は、簡単な溶媒抽出後に、多数の精製方法の代わりに、高速液体クロマトグラフ(HPLC)(ポンプを購入)の 2 段階で精製するものである。カラムは、1 段階目は多量分取用(内径 10mm、長さ 15cm の ODS カラム)、2 段階目は高分離分取用(内径 4.6mm、長さ 25cm の ODS カラムを 2 本接続した 50cm カラム)を使用する。すでにマニュアル化しており、学部生でも習得可能で、卒業研究としても実績がある。

【LC-MS 定量の感度は向上】 安定同位体標識の各植物ホルモンの標品を使用して液体クロマトグラフ-質量分析計(LC-MS)(現有機器)により網羅的な分析を行う。綿密な試験により、1 千万円弱の MS の性能を最大限に引き出して、5 千万円以上の MS/MS 並みの定量感度の使用方法を開発済みである。

4. 研究成果

‘ウエルカム’の休眠芽に高濃度の IAA が存在し、‘ウィンデル’の萌芽には低濃度の IAA が存在した。

今回得られた IAA のデータではこれといった考察ができなかった。ただ、IAA は細胞分裂や細胞伸長の活発な若い組織に高濃度で存在することが知られており、急成長する萌芽の IAA 濃度が後に急上昇すると考えられる。児島らの行った実験はアスパラガスの萌芽が成長するにつれて IAA 濃度が上昇することを示しており、この考えを裏付けている。

両品種とも根、休眠芽、地下茎、萌芽の順に ABA 濃度が高く、特に萌芽に高濃度で存在していた。また、2 品種の各部位の濃度を比較するといずれの部位においても‘ウエルカム’の濃度の方が高かった。

ABA は休眠誘導の作用で知られる植物ホルモンである。このため、本実験を始める前は休眠誘導

を司る ABA が休眠芽に高濃度で存在すると予想していたが、実際は違った。そこで、休眠芽で高濃度の ABA が検出されなかったことと、萌芽で高濃度の ABA が存在していたことについて以下のように考察した。

休眠芽に高濃度の ABA が存在しなかったのは萌芽適正時期が近づき、ABA 濃度が下がってきた状態のサンプルを採取したためだと思われる。植物の休眠の維持には ABA が一定以上必要であるが、休眠性が弱くなるにつれて濃度も低下することが知られている。

次に萌芽で高濃度の ABA が検出された理由であるが、ABA が IAA のように萌芽の伸長に関わっていると考えられる。気孔の閉鎖、成長抑制、休眠など ABA はマイナスの生理作用を多く持つ。しかし、ABA 濃度と果実の肥大には正の相関があるという報告がブドウ⁷、リンゴ⁸、ダイズ⁹、オレンジ¹⁰などの植物で挙げられている。アスパラガスの場合、果肉ではなく茎であるが、ABA がこれと同じ作用をしていると推察される。さらに児島らの行った実験はアスパラガスの萌芽が成長するにつれて ABA 濃度が上昇することを示している。

‘ウェルカム’の MJA 濃度は JA と同様に根、地下茎、休眠芽、萌芽の順に高い濃度で存在し、特に萌芽に高濃度で存在していた。一方、‘ウィンデル’にはそのような傾向は見られなかったが、萌芽で最も高い濃度で存在していた。

MJA は JA と同じくストレス応答の作用があり、MJA が萌芽に高濃度で存在するのは萌芽が何かしらのストレスを受けているからであろう。

本実験で用いたアスパラガスのサンプルはまだ地中に存在していたものを掘り起こして得たものであるが、本来であれば萌芽は成長を続け、いずれ地表に出てくる。すると小動物による食害の危険が生じる。これに備えるため、萌芽中に MJA が高濃度で存在していると考えられる。また、ジャスモン酸類の生合成経路によると MJA は JA から合成されるので、JA が萌芽に高濃度で存在することも納得できる。

前田らの行った実験はこの考えを裏付けている。前田らは地表に出てきたアスパラガスの萌芽に MJA を施与するとサポニンの一種で弱い毒性(人が苦みを感じる程度)のあるプロトディオシンの生合成が活発になることを示した。これは野生型のアスパラガスの食害に対する防衛反応の名残だと考えられる。

2 品種とも萌芽における Z 濃度が特に高いという結果になった。

サイトカイニン類のよく知られた機能に細胞増殖が挙げられる。アスパラガスの萌芽は 20~23 の暗黒下で、長さ 4cm のものが 5 日で 40cm に伸長するという報告があり、細胞増殖が活発である必要がある。萌芽に高濃度で存在する Z が細胞増殖を促進していると考えられる。

さらに、サイトカイニン類を施与した部位はシンクとしてのはたらきが強まり、栄養分が転流することがわかっており、サイトカイニン類を分解できなくなった変異イネで種子の収量が増加する。萌芽の急成長には大量の光合成産物が必要であり、萌芽における Z が地下茎に蓄えられた光合成産物の転流を促しているのであろう。

また、サイトカイニン類には IAA との相互作用による頂芽優勢というはたらきもある。本実験では萌芽に IAA が高濃度で存在するという結果は得られなかったが、後に萌芽の IAA 濃度が上昇し、Z との相互作用により、頂芽優勢が発現するものと思われる。

ジベレリンの活性型には GA1 と GA4 の 2 つがあり、どちらを利用するかは植物種によって異なる。また、植物によっては部位ごとに GA1 と GA4 を使い分けているものもある。このことに GA1 濃度の結果を加味するとアスパラガスの使用しているジベレリンは(少なくとも休眠打破と初期段階の茎の伸長に関しては) GA1 であると考えられる。

ただし、‘ウェルカム’の休眠芽、萌芽には無視できないくらいの濃度の GA4 が存在しているため、GA4 には何か別のはたらきがあると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 児島清秀・安藤大悟・久保田奏子・唐 天利・今井峻平・元木 悟
2. 発表標題 植物ホルモンの網羅的分析によるアスパラガスの若茎の伸長生理の解明（口頭発表）
3. 学会等名 園芸学会春期大会（近畿大）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 児島清秀・高田真裕香
2. 発表標題 キュウリ果実の主要な内生植物ホルモンの網羅的分析
3. 学会等名 第22回LCテクノプラザ（横浜市）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 児島清秀・青木智香
2. 発表標題 イチゴの瘦果と果托の内生植物ホルモンの網羅的分析
3. 学会等名 園芸学会秋季大会（江別市）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 児島清秀・安藤大悟・久保田奏子・唐 天利・今井峻平・元木 悟
2. 発表標題 植物ホルモンの網羅的分析によるアスパラガスの若茎の伸長生理の解明
3. 学会等名 園芸学会春季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 児島清秀・野村隼大・五十嵐央也
2. 発表標題 LC-MSによる植物ホルモンの網羅的分析法の開発
3. 学会等名 第20回LCテクノプラザ
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 唐天利・児島清秀・久保田奏子・元木悟
2. 発表標題 アスパラガスの若茎におけるステージごとの部位別の伸長速度
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 児島清秀・高田真裕香
2. 発表標題 キュウリ果実のアポプラスト中の主要な内生植物ホルモンの分布
3. 学会等名 植物化学調節学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 野村隼大・児島清秀
2. 発表標題 メロンの植物体と果実の内生植物ホルモンの網羅的定量
3. 学会等名 園芸学会北陸支部会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 五十嵐央也・矢野志野布・児島清秀
2. 発表標題 キクの挿し穂の内生植物ホルモンの分布
3. 学会等名 園芸学会北陸支部会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	元木 悟 (Motoki satoru) (80502781)	明治大学・農学部・専任准教授 (32682)	